Med 24

Aus der I. Medizinischen Klinik des Universitätskrankenhauses
Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Professor Dr. med. H. Bartelheimer)

Über das Verhalten des Plasmacortisols bei akuter diabetischer Stoffwechseldekompensation

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Gisela Reineke
aus Paderborn

Hamburg 1961

Aus der I. Medizinischen Klinik des Universitätskrankenhauses
Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Professor Dr. med. H. Bartelheimer)

Über das Verhalten des Plasmacortisols bei akuter diabetischer Stoffwechseldekompensation

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Gisela Reineke
aus Paderborn

Hamburg 1961

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am 25.8 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg
Dekan: Professor Dr.med. R. Prévôt
Referent: Privatdozent Dr.med. H. Sauer
Korreferent: Professor Dr.med. H. Bartelheimer

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Versuchsanordnung	12
Methodik	14
Ergebnisse	19
Diskussion der Ergebnisse	29
Zusammenfassung	36
Literaturverzeichnis	37
Anhang	44

Die Rolle der Nebennierenrinde im Kohlehydratstoffwechsel

Seit ungefähr 50 Jahren weiß man, daß die Nebenniere eine bedeutende Rolle im Kohlehydratstoffwechsel spielt. 1901 konnte Blum im Tierexperiment nachweisen, daß nach subkutanen Injektionen von Nebennieren-Extrakten Glukosurie auftritt. Der Autor nannte diesen Zustand "Nebennieren-Diabetes". Etwas später beobachteten Bierry und Malloizel (1908) Hypoglykämien bei adrenalektomierten Hunden, und Porges (1909) beschrieb hypoglykämische Werte bei nüchternen Addison-Patienten. Andere Untersucher bestätigten diese Befunde und wiesen darüber hinaus eine deutliche Abnahme des Leber- und Muskelglykogens nach (Cori und Cori 1927). Britton und Silvette (1932) vermuteten, daß die Regulation des Kohlehydratstoffwechsels die Hauptfunktion der Nebennierenrinde sei.

Im Tierexperiment zeigte sich, daß Adrenalektomie die Schwere des Pankreasdiabetes vermindert, andererseits der Diabetes durch Nebennierenrinden-Extrakte verschlechtert wird (Hartman und Brownell 1934). Long und Mitarbeiter (1940) faßten zusammen und stellten heraus, daß hungernde adrenalektomierte Tiere einen niedrigen Blutglukosespiegel und vermindertes Leber- und Muskelglykogen haben. Bei nebennierenlosen Tieren, die gefüttert und mit Kochsalz substituiert werden, sind diese Veränderungen nicht nachweisbar. Nebennierenrinden-Extrakte erhöhen den Blutglukosespiegel, vermehren das Leberglykogen und verstärken die Stickstoffausscheidung. Die Quelle dieser neugebildeten Kohlehydrate ist ein erhöhter Eiweißabbau.

Das klinische Äquivalent der bei Tieren experimentell erzeugten Nebenniereninsuffizienz ist der Morbus Addison. Addison hatte bei der klassischen Beschreibung dieser Krankheit 1855 vor allem auf die Bedeutung der Nebenniere für den Gesamthaushalt des Individuums hingewiesen, während Porges (1909) - wie oben erwähnt - die hypoglykämischen Zustände der Addison-Kranken besonders herausstellte. Die Kohlehydratstoffwechselstörungen dieses Krankheitsbildes, niedriger Nüchternblutzuckerwert, starke sekundäre Hypoglykämie nach oralen oder intravenösen Glukosegaben und ausgeprägte Insulinempfindlichkeit, schwinden durch Substitution mit Glucocorticoiden. Der Pankreasdiabetes bei Ratten kann durch Adrenalektomie verbessert werden (Long und Lukens 1934). Tritt bei einem Diabetiker zusätzlich ein Morbus Addison auf, so zeigt sich der Beginn der Nebenniereninsuffizienz in einer Abnahme der Glukosurie und verringertem Insulinbedarf. Schliesslich kommt es zu starker Insulinempfindlichkeit. Nach Gaben von Glucocorticoiden wird bei solchen Patienten der Diabetes wieder intensiver.

Durch Nebennierenrinden-Extrakte wird der Diabetes pankreatektomierter Tiere verschlechtert (Lukens und Dohan 1938). Auch bei der gesunden Ratte (Ingle 1941, 1945a) und beim normalen Meerschweinchen (Hausberger und Ramsey 1953) kann man durch Cortison oder Hydrocortison schwere Hyperglykämie oder Glukosurie hervorrufen. Dieser Steroiddiabetes unterscheidet sich vom Pankreasdiabetes durch 1.) Neigung zur Insulinresistenz, die manchmal sehr ausgeprägt sein kann, 2.) stark

negative Stickstoffbilanz, 3.) Fehlen der Glukosurie beim Fasten und 4.) Reversibilität des Diabetes, wenn die Hormone nicht mehr gegeben werden (Ingle 1956). Auch durch häufige ACTH-Injektionen lässt sich bei der normalen Ratte der Steroiddiabetes erzeugen. Bei adrenalektomierten Ratten ist dieses Hormon unwirksam (Ingle 1945 b).

Hyperglykämie und Glukosurie, die durch Glucocorticoidgaben hervorgerufen wurden, führte man auf die verstärkte Gluconeogenese aus Eiweiss zurück. Man fand jedoch, dass unter diesen Bedingungen die Glukoseausscheidung im Harn im Verhältnis stärker anstieg als die Stickstoffausscheidung. Die Erhöhung dieses D/N Quotienten führte zu der Vermutung, dass beim Steroiddiabetes nicht nur die Glukoseproduktion vermehrt, sondern auch der Glukoseverbrauch vermindert sei. Wick (1951) und Drury (1953) beobachteten, dass bei eviscerierten Tieren, die Cortison bekommen hatten, die Oxydation von C_{14} markierter Glukose zu CO_2 gegenüber normalen Tieren nicht verändert ist. Renold und Hastings (1953) konnten an Leberschnitten nachweisen, dass bei steroiddiabetischen Tieren der Glukoseverbrauch unverändert bleibt, die Glukoseproduktion in der Leber auf über das Doppelte gesteigert ist. Eine andere Erklärung für den erhöhten D/N-Quotienten vermutet man in der Wirkung des Cortisons auf die Glukoseausscheidung in der Niere. Dustan und Mitarbeiter (1951) fanden, dass unter Cortison oder ACTH die tubuläre Rückresorption für Glukose vermindert ist. Kendrick (1950) und Froesch (1958) beobachteten unter gleichen Versuchsbedingungen keine Veränderung der Tubulusresorption, jedoch einen

Anstieg des Glomerulumfiltrates. Erhöhter Glukosegehalt und gleichzeitiger Anstieg des Glomerulumfiltrates können die verstärkte Glukosurie bedingen. Thorn und Mitarbeiter (1959) erwägen folgende Möglichkeiten, die Diskrepanz zwischen Glukose- und Stickstoffausscheidung zu erklären: Glukoneogenese aus Proteinen mit hohem Polysaccharidgehalt, vorübergehende Stickstoffspeicherung in Form von Aminosäuren. Ausserdem kann der Glukoseverbrauch herabgesetzt sein durch vermehrte Fettsäureverbrennung und beschleunigte Resynthese der Glukose aus Glukoseabbauprodukten, die 3 Kohlenstoffatome enthalten. Endlich steht dem Körper bei der Mobilisation der Fettsäuren Glyzerin als begrenzte Glukosequelle zur Verfügung.

In der Klinik tritt der Steroiddiabetes beim Morbus Cushing oder als Komplikation einer ACTH- oder Glucocorticoidtherapie auf. Glucocorticoidgaben können bei Patienten mit normalem Kohlehydratstoffwechsel vorübergehend zu verminderter Kohlehydrattoleranz, Hyperglykämie und Glukosurie führen. Dazu kommt es zu einer negativen Stickstoffbilanz und einer vermehrten Ausscheidung von Kalium und Phosphor.

Der <u>therapeutische Steroiddiabetes</u> tritt relativ selten auf. Bookman und Mitarbeiter (1953) fanden unter 100 Patienten, die unter Cortison- oder ACTH-Behandlung standen, 5 Diabetesfälle. Wallentin und Braunsteiner (1956) sahen bei 300 Patienten sechs mal einen Diabetes. Im Tierversuch wurden nach hohen Glucocorticoidgaben Zeichen verstärkter Aktivität der Pankreasinselzellen nachgewiesen (Hausberger und Ramsey 1955, Kracht 1958). Die B-Zellen-Reserve ist für die Mani-

festation des Steroiddiabetes von entscheidender Bedeutung. In den meisten Fällen reicht sie aus, den diabetogenen Effekt der Glucocorticoide zu kompensieren, obgleich geringe Grade verminderter Kohlehydrattoleranz zu Beginn der Cortisonbehandlung oft nachgewiesen werden können (Conn und Fajans 1956). Bei fortdauernder Steroidtherapie kann sich die Kohlehydrattoleranz - offenbar als Folge der B-Zellen-Hyperplasie - wieder normalisieren. Bastenie und Verbiest (1953) beobachteten nach Absetzen der Glucocorticoide vermehrte Insulinempfindlichkeit bis zur Hypoglykämieneigung und vermuteten, dass die erhöhte Insulinempfindlichkeit durch die Dämpfung der Nebennierenrindenfunktion nach exogener Hormonzufuhr bedingt sei. Bookman und Mitarbeiter (1953) fanden bei vier von fünf Patienten mit Steroiddiabetes eine familiäre Belastung, Sauer und Mitarbeiter (1958) bei fünf von 14 Patienten. Dieses spricht für die Annahme, dass zur Manifestation des Steroiddiabetes ein unterwertiges Inselorgan eine wichtige Voraussetzung ist. Die diabetische Erbanlage ist weit verbreitet, der Diabetes mellitus manifestiert sich oft erst im höheren Alter oder bleibt vielfach unerkannt. Deshalb ist bei vielen Patienten mit Steroiddiabetes eine familiäre Belastung nicht bekannt. Das Intervall zwischen dem Beginn der Steroidtherapie und dem Ausbruch des Diabetes kann sehr unterschiedlich sein, nach den Angaben von Sauer und Mitarbeitern (1958) eine Woche bis ein Jahr. Auf die meist zu beobachtende Reversibilität des Steroiddiabetes wird von allen Beobachtern hingewiesen.

Bei Diabetikern führt Cortison- oder ACTH-Behandlung

zu starkem Anstieg des Nüchternblutzuckers und vermehrter Glukosurie. Fast immer kommt es zum Anstieg des Insulinbedarfs. Kinsell und Mitarbeiter (1953) vermuten, dass die steroidinduzierte Insulinresistenz teilweise durch den Kaliumverlust, der mit der Cortisonzufuhr einhergeht, bedingt ist.

Der Diabetes beim Morbus Cushing wird durch vermehrte Sekretion von Glucocorticoiden hervorgerufen, die von hyperplastischen Nebennieren oder einem Nebennierentumor abgesondert werden. Die Veränderungen im Kohlehydratstoffwechsel sind identisch mit dem therapeutischen Steroiddiabetes. Der Diabetes ist in diesen Fällen mild und relativ insulinempfindlich. Ein Morbus Cushing kann jedoch auch ohne grobe Störungen des Kohlehydratstoffwechsels auftreten. Plotz und Mitarbeiter (1952) beobachteten 33 Cushing-Kranke. Nur in fünf Fällen zeigte sich ein Diabetes, 9 Patienten hatten eine Glukosurie, bei 31 Patienten war der Glukose-Toleranz-Test pathologisch. Über ähnliche Befunde berichten Thorn und Mitarbeiter (1957): 29 von 36 Patienten zeigten abnorme Glukosetoleranz, aber nur 10 Patienten hatten einen Diabetes. Bei M.Cushing-Kranken ist die Insulinsekretion normal oder auch vermehrt, obgleich die gesteigerte Aktivität der B-Zellen manchmal unzureichend ist, den normalen Blutzuckerspiegel bei verstärkter Glukoneogenese und gleichbleibender peripherer Utilisation aufrecht zu erhalten.

Diabetes und Nebennierenrindenfunktion

Nach dem klassischen Extirpationsversuch von Mering und Minkowski (1889) und dem Substitutionsversuch von Banting und Best (1921) glaubte man, dass der Diabetes mellitus eine Insulinmangelkrankheit sei. Doch wenige Jahre später konnte Houssay (1929) nachweisen, dass durch Hypophysektomie der Pankreasdiabetes gemildert wird. Damit war die Deutung des Diabetes als reines Unterfunktionssyndrom in Frage gestellt. Klinische Beobachtungen führten Bartelheimer (1940) und Falta (1944) dazu, den Diabetes mellitus als "Funktionsstörung der im glycoregulatorischen Wechselspiel entgegengesetzt arbeitenden Hormone" anzusehen und einen Unterfunktions- bzw. Insulinmangeldiabetes von einem Überfunktions- bzw. Gegenregulationsdiabetes zu unterscheiden. Bartelheimer und Papayanopulos (1941) fanden beim "Diabetiker des Cushing-Typs", dass die Melanophorenreaktion im Blut im Vergleich zu Stoffwechselgesunden und Patienten mit Pankreasunterfunktionsdiabetes erhöht war. Neben den Hormonen der Hypophyse und anderer Inkretdrüsen wurde auch auf die Nebennierenrinde als Insulinantagonist hingewiesen. Nachdem in den 30er Jahren die chemische Struktur der Rindenhormone aufgeklärt war und anschliessend spezifische Methoden zur Corticoidbestimmung im Blut und Urin entwickelt worden waren, begannen zahlreiche Untersuchungen über die Nebennierenrindenfunktion beim Diabetes mellitus.

Die mit unterschiedlicher Methodik bisher durchgeführten Untersuchungen der Corticoide im Plasma und Harn bei

Diabetikern mit kompensiertem Stoffwechsel haben zum Teil erniedrigte, zum Teil im Normbereich liegende, aber auch erhöhte Werte ergeben. Niedrige 17-Ketosteroidausscheidungen fanden zum Beispiel Fraser und Mitarbeiter (1941), Miller und Mason (1945), Forbes und Mitarbeiter (1947) und auch Wilson und Mitarbeiter (1950). Horstman (1950) und Jakobson (1958) stellten weiterhin fest, daß die Ausscheidung der 17-Ketosteroide vermindert ist bei Männern im geschlechtsreifen Alter, gering vermindert bei Frauen im geschlechtsreifen Alter und normal bei Kindern und alten Leuten. Wilson und Mitarbeiter (1950) benutzten als Index der funktionellen Leistung der Nebennierenrinde den Eosinophilenabfall nach ACTH-Gaben und fanden dabei, daß der Eosinophilensturz bei Diabetikern nicht so ausgeprägt ist wie bei gesunden Kontrollpersonen. Field und Marble (1951) untersuchten bei Diabetikern den Eosinophilenabfall prä- und postoperativ und fanden bei 10 von 25 Patienten ein vermindertes Ansprechen auf ACTH. Andere Untersucher konnten jedoch bei Diabetikern keinen veränderten Eosinophilensturz nach ACTH-Belastung nachweisen (Tagnon 1953, Rausch-Stroomann und Sauer 1956). Shadaksharappa und Mitarbeiter (1951) sahen bei ihren Diabetikern ohne Gefäßschäden normale 17-OH-Steroide im Harn. Bei Bestimmung des Plasmacortisols nach ACTH-Belastung konnten Eik-Nes und Mitarbeiter (1955) bei Diabetikern keine Veränderung der Blutcorticoide im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen feststellen. Dagegen beobachtete Jakobson (1958) einen stärkeren Anstieg der 17-OHCS im Plasma nach ACTH-Gaben als bei Nichtdiabetikern. Auch Rausch-Stroomann und Sauer (1956)

fanden, dass die Urinsteroide bei Diabetikern durchschnittlich erhöht sind, nach ACTH-Belastung jedoch kein stärkerer Anstieg der Harnsteroide als normalerweise erfolgte. Ebenso konnte Polosa (1953) bei 83 % seiner Diabetiker erhöhte Steroidhormonausscheidungen nachweisen.

Bei plötzlicher Blutzuckersenkung durch Insulin konnten Bartelheimer und Mitarbeiter (1942) bei Stoffwechselgesunden einen "corticotropen Wirkstoff" im Blut nachweisen, der bei Mäusen zu einem Anstieg des Nebennierengewichtes führte. Später wies Knick (1954) während der Insulinhypoglykämie erhöhte Plasma-ACTH-Aktivität nach. Marks u.a. (1958) fanden während einer 3 monatigen Insulinschocktherapie, dass an den Behandlungstagen die Ausscheidung der 17-Hydroxy- und 17-Ketosteroide erhöht war. Froesch (1955) beobachtete, dass der Blutzuckerabfall nach Insulininjektionen auch zum Anstieg der Plasmasteroide führt. Auf plötzliche Blutzuckersenkung nach Insulingaben reagieren auch Diabetiker mit Erhöhung des Plasmacortisolspiegels (Jaumann 1957). Der Anstieg der 17-OHCS im Blut ist jedoch nicht stärker ausgeprägt als bei gesunden Kontrollpersonen.

Beobachtungen über vermehrte Steroidausscheidungen und erhöhte Plasmasteroide während der diabetischen Acidose liessen die Vermutung aufkommen, dass die Nebennierensekretion während der Acidose gesteigert ist. Rose (1951) wies bei alloxandiabetischen Ratten nach Insulinentzug erhöhte Nebennierengewichte nach. Field (1955) machte gleiche Beobachtungen, konnte aber durch Insulinbehandlung die Nebennierenvergrösserung ver-

hindern. McArthur und seine Mitarbeiter (1950 und 1952) und Stowers (1951) fanden, daß acidotische Diabetiker vermehrt Corticoide ausscheiden. Auch bei pankreasdiabetischen Hunden stiegen die Urinsteroide an und fielen die Eosinophilen im Blut ab, wenn sie kein Insulin erhielten und dadurch in die Acidose kamen (McArthur und Mitarbeiter 1954 a). Wallach (1957) konnte nachweisen, daß acidotische Diabetiker nicht nur vermehrt Corticoide ausscheiden, sondern daß während der Acidose auch die freien und gebundenen Plasmasteroide erhöht sind. Schon bei ungenügend kontrolliertem Diabetes fanden Klein und Mitarbeiter (1956) bei Kindern das Plasmacortisol erhöht, und Göth berichtet, daß Diabetiker mit hohem Blutzuckerspiegel höhere Blutsteroidwerte haben als Diabetiker, bei denen durch Insulin der Stoffwechsel gut kompensiert ist.

Einige tierexperimentelle und klinische Beobachtungen wurden dahingehend gedeutet, daß die Nebennierenrinde an der Entstehung der diabetischen Gefäßschäden beteiligt ist. So konnten Lukens und Dohan (1946) bei einem Hund mit einem 5 Jahre lang bestehenden HVL-Diabetes noduläre Glomerulaläsionen nachweisen. Becker (1952) fand bei alloxandiabetischen Kaninchen, die er mit Cortison behandelte, ähnliche Veränderungen und darüber hinaus bei einigen Tieren Kapillarveränderungen an der Retina. Auch Rich und Mitarbeiter (1950) berichteten über ähnliche Befunde. Ob diese Veränderungen jedoch identisch sind mit denen bei der diabetischen Glomerulosklerose, ist nicht ganz sicher (Le Compte 1955). Nach 9 monatiger Anwendung von Desoxycorticosteronacetat bei alloxandiabetischen Kaninchen fanden Bloodworth und Hamwi (1956) Nierenveränderungen, die der menschlichen Glomerulosklerose sehr ähnlich waren. Im Gegensatz hierzu steht die klinische Beobachtung, daß der Steroiddiabetes bei Cushing-Patienten nicht häufiger mit Gefäßkomplikationen

einhergeht als der gewöhnliche Diabetes. McCullagh und Alivisatos (1956) haben unter 21 Patienten mit Steroiddiabetes zweimal eine diabetische Angiopathie, Ricketts (1954) unter 7 Fällen keine gesehen. Vielleicht kommt es bei Cushing-Patienten infolge der kürzeren Lebenserwartung gar nicht zur Entwicklung der Gefäßschäden. Andererseits könnte man erwarten, daß ein extrem hoher Plasmacortisolspiegel das Auftreten der diabetischen Angiopathie beschleunigt. Auch unter 13 von Sauer und Mitarbeitern (1958) beobachteten Patienten mit therapeutischem Steroiddiabetes konnte keine diabetische Retinopathie gefunden werden.

Folgende Beobachtungen liessen ebenfalls eine verstärkte Nebennierenrinden-Aktivität bei der Genese diabetischer Gefäßschäden vermuten: Ehlers (1953), Lachnit (1952) und Jackson (1955) sahen während einer Cortison- oder ACTH-Behandlung Verschlechterung der diabetischen Angiopathie. Becker (1954) fand, daß sich bei einer Diabetikerin im letzten Schwangerschaftsdrittel die Retinopathie verschlechterte. Nach Poulsen's Beobachtungen (1953) wurde eine diabetische Retinopathie durch das Auftreten eines Sheehan-Syndroms günstig beeinflusst. Kinsell (1954) und Luft (1955) berichteten, daß in mehreren Fällen durch Adrenalektomie oder Hypophysektomie das Fortschreiten diabetischer Retinopathie und Nephropathie verhindert wurde.

Während Shadaksharappa und Mitarbeiter (1951) und Maegwyn-Davies und Mitarbeiter (1956) bei Patienten mit diabetischen Gefäßschäden vermehrt Steroidmetabolite im Harn fanden, konnten andere Autoren (Jakobson 1958, Sauer und Rausch-Stroomann 1958 und Rifkin 1958) keinen Unterschied in der Ausscheidung reduzierender Corticoide, noch ein vermehrtes Ansprechen der Nebennierenrinde nach ACTH-Belastung bei Diabetikern mit Gefäßschäden gegenüber komplikationsfreiem Diabetes feststellen.

Versuchsanordnung

Bei 10 männlichen und 10 weiblichen nicht diabetischen Patienten, die sich im Stadium der Rekonvaleszenz kurz vor ihrer Entlassung aus der stat. Behandlung befanden und fieberfrei waren, wurden die freien Corticoide im Nüchternblut bestimmt. Die Blutentnahme erfolgte morgens zwischen 8 und 9 Uhr. Das heparinisierte Blut wurde sofort zentrifugiert, und das abgesaugte Plasma anschliessend nach der unten angegebenen Methode verarbeitet.

Zur Bestimmung des Plasmacortisols bei Diabetikern wurden 9 diabetische Patienten ausgesucht, die zur Insulinneueinstellung in stationäre Behandlung gekommen waren. Der Diabetes war bei ihnen durchschnittlich seit 10 Jahren bekannt. Sie hatten keine diabetischen Gefäßstörungen und ihre Nierenfunktion - gemessen an der Nierenclearence - war normal. An den Tagen vor dem Insulinauslaßversuch war ihre Stoffwechsellage ausgeglichen.

Am Untersuchungstage wurde erstmals morgens zwischen 8 und 9 Uhr in nüchternem Zustand Venenblut zur Cortisolbestimmung entnommen. Anschliessend erhielten die Patienten ihre gewohnte Diät ohne entsprechende Insulindosis und mussten Bettruhe einhalten. Der Blutzuckerspiegel wurde fortlaufend jede Stunde kontrolliert. Auf dem Gipfel der Blutzuckerkurve wurde erneut Blut zur Corticoidbestimmung abgenommen. Im Anschluß daran erhielten die Patienten Insulin und nach 1 bis 2 Tagen

war in allen Fällen die Stoffwechsellage wieder ausgeglichen. Während des Insulinauslassversuches zeigten sich bei ihnen als subjektive Symptome des entgleisten Stoffwechsels Polyurie und Polydipsie, jedoch in keinem Fall Schläfrigkeit oder Benommenheit.

Zur Bestimmung der Kontrollwerte des freien Plasmacortisols wurde darüber hinaus bei den selben Patienten bei kompensiertem Stoffwechsel noch ein oder zweimal Venenblut entnommen und zwar zu den gleichen Tageszeiten wie am Tage des Insulinauslassversuches.

Methodik

Die Bestimmung der freien Corticoide im Plasma erfolgte nach der Methode von Eik-Nes u.a. (1953), die von Bierich (1959) modifiziert wurde. Sie basiert auf der von Porter und Silber(1950) entwickelten Farbreaktion, nach der alle im Plasma vorhandenen 17,21-Dihydroxy-20-Ketosteroide (Hydrocortison-Compound F Kendall, Cortison - Compound E Kendall, 11-Desoxy-17-Hydroxycorticosteron - Compound S Reichstein) mit Phenylhydrazin im sauren Milieu eine Gelbfärbung ergeben, die auf der Bildung von Phenylhydrazon beruht. Diese Farbreaktion wird in ihrem Ausmass photometrisch gemessen und hat für die cortisolartigen Verbindungen ein spezifisches Absorptionsmaximum, dass bei einer Wellenlänge von 410 mm mü liegt. Da jedoch verschiedene Blutabbauprodukte, Gallensäuren, fettlösliche Pigmente und Glukose mit dem Porter-Silber-Reagens ebenfalls gefärbte Produkte liefern, müssen diese vorher eliminiert werden, was bei der angewendeten Methode auf dreifache Art geschieht:

1.) Entfernung der unerwünschten Substanzen durch Lösungsmittelverteilung zwischen Wasser und Benzol.

2.) Erfassen eines Teils der Chromogene durch Ansetzen einer zweiten Plasmaprobe, die am Schluss der Analyse anstatt mit dem Porter-Silber-Reagens nur mit Schwefelsäure-Alkohol versetzt wird. Der gemessene "Schwefelsäureextinktionswert" wird vom "Porter-Silber-Extinktionswert" subtrahiert (Bayliss und Steinbeck 1953).

3.) Rechnerisches Eliminieren der unspezifischen Chromogene durch Anwendung der Allen-Korrekturformel. Auf Grund der spektrographischen Absorptionskurven lassen sich diese von den Corticosteroiden trennen, da ihr Maximum im kurzwelligen Bereich liegt und sie im zu messenden Bereich lineare Absorptionskurven aufweisen (Nelson und Samuels 1952).

Da die angewandten Extraktionsmittel trotz sorgfältiger Reinigung oft noch Eigenfärbung verursachen, wurden

bei jeder Analyse 10 ml Aqua dest. wie eine Plasmaprobe durch alle Reinigungsstufen mitgeführt und zum Schluss das Porter-Silber-Reagens gegen diesen Reagentienwert photometriert.

Im einzelnen wurde wie folgt verfahren:
10 ml Plasma werden zusammen mit 50 ml Methylenchlorid in einen 200 ml fassenden Erlenmeyerkolben gegeben und auf der Schüttelmaschine 10 Minuten lang beide Phasen gegeneinander bewegt. Die Lösung wird in ein 70 ml fassendes Schüttelglas umgegossen, das Schüttelglas mit Methylenchlorid nachgespült und nach Zentrifugieren von 5 Minuten das Plasma mit einer Kanüle abgesaugt, die an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen ist.

Der Methylenchloridextrakt wird in 100 ml fassende Rundkolben gesammelt und in ein Wasserbad von 40 Grad C gesetzt. Durch Absaugröhrchen, deren Öffnung durch mehrere Mullagen geschützt ist, wird gefilterte Luft durch die Rundkolben gezogen und der Methylenchloridextrakt bis zur Trockne eingedampft.

Dieser Rückstand wird anschliessend in 4 ml thiophenfreiem Benzol gelöst und nach 10 Minuten in etwa 15 ml fassende Zentrifugenröhrchen hinübergegossen. Den Rundkolben wäscht man mit 8 ml Aqua bidest. nach und gibt dieses dann auch zur Benzollösung. Man schüttelt dieses Benzol-Wassergemisch vorsichtig etwa eine Minute lang und zentrifugiert anschließend, damit sich beide Phasen vollständig voneinander trennen. Das Wasser wird mit einer 10 ml fassenden Spritze, die mit einer langen, abgestumpften Kanüle armiert ist, herausgezogen und in ein 100 ml fassendes Schüttelglas gebracht. Dreimal wird so die Benzollösung mit Aqua bidest. ausgeschüttelt. Beim dritten Mal wird das Benzol abgesaugt und verworfen. Der vereinigte Wasserextrakt wird zweimal mit 35 ml frisch über K_2CO_3 destilliertem Chloroform kräftig geschüttelt und nach vollständigem Trennen beider Phasen durch Zentrifugieren das Chloroform mit einer 50 ml fassenden Spritze, die eine lange, abgestumpfte Kanüle trägt, herausgezogen und in einem 100 ml Rundkolben

gesammelt. Auf einem Wasserbad von 40 Grad C wird unter Durchsaugen von gefilterter Luft der Chloroformextrakt bis auf etwa 50 ml eingedampft. Man bringt diese Lösung nun in 10 ml gradierte Röhrchen, wäscht den Rundkolben zweimal mit 2 ml Chloroform nach und füllt den Chloroformextrakt im gradierten Röhrchen auf genau 10 ml auf. Mit 1 ml n/10 NaOH wird er nun vorsichtig geschüttelt. Nach Trennen beider Phasen durch Zentrifugieren wird die Natronlauge abgesaugt und der Chloroformextrakt durch einen Papierfilter gegeben.

Zwei 4 ml Aliquote dieses Chloroformextraktes werden in zwei 10 ml fassende, sehr spitz zulaufende Glasröhrchen pipettiert, wovon eines mit 1,2 ml frisch bereitetem Phenylhydrazin-Schwefelsäure-Alkohol, das andere mit 1,2 ml Schwefelsäure-Alkohol kräftig geschüttelt wird. Nach dem Zentrifugieren wird die Chloroformphase mit Pipetten herausgesogen. Die Röhrchen mit den Reagentien bleiben bei Zimmertemperatur über Nacht stehen.

Die Ablesung der die Phenylhydrazone enthaltenden Mikrocuvetten gegen den Reagentienwert erfolgt 24 Stunden später im Beckmanschen Spektralphotometer bei 370, 410 und 450 mm mü. Von diesem Extinktionswert wird der Wert abgezogen, den man erhält, wenn man anschliessend den Plasma-Schwefelsäure-Alkohol-Wert gegen den Reagentien-Schwefelsäure-Alkohol-Wert photometriert. Die Berechnung der Plasmacorticoide erfolgt nach der Allen-Korrekturformel:

$$D_{corr} = D_{410} - \frac{D_{370} + D_{450}}{2} \times F$$

(D_{corr} bedeutet die korrigierte optische Dichte, D_{370}, D_{410} und D_{450} die optischen Dichten bei den entsprechenden Wellenlängen, d.h. die Extinktion der Hauptwerte nach Abzug der Extinktion der Schwefelsäure-Alkohol-Werte.)
Die Multiplikation mit dem aus der Eichkurve abgeleiteten Faktor F ergibt den Corticoidgehalt von 10 ml Plasma.

Bemerkungen zur Methode:
Für jede Plasmacorticoidbestimmung wurden etwa 25 ml Blut benötigt, das mit 0,4 - 0,5 ml Vetren (ein Heparinpräparat) ungerinnbar gemacht wurde. Innerhalb von 30 Minuten wurde das Blut zentrifugiert und das Plasma abgesaugt, das dann sogleich weiterverarbeitet wurde. Verschiedentlich konnte wegen vorhandener grösserer Blutmengen Doppelbestimmungen durchgeführt werden, wobei die Fehlergrenze $\pm$ 0,6 gamma % betrug.

Die verwandten Reagentien wurden von der Firma Merck bezogen. Das Methylenchlorid wurde über einer 1 m langen Silikagelsäule gereinigt und erst dann für die Analysen verwendet. Chloroform wurde für jede angesetzte Plasmaserie frisch über K_2CO_3 destilliert und Phenylhydrazin hydrochloricum zweimal in Aethylalkohol umkristallisiert und anschliessend im Exsikkator über Ca CO_3 unter Lichtabschluß getrocknet. Es wurde dann kühl und dunkel aufbewahrt und etwa 5 - 6 Tage gebraucht.

Die Eichkurve wurde mit kristallinem Hydrocortison Schering ermittelt. Anstatt der 10 ml Plasma, die zu Anfang jeder Analyse mit 50 ml Methylenchlorid geschüttelt wurden, wurden 10 ml Aqua bidest. verwendet, die 1, 2, 3 oder 4 gamma Hydrocortison enthielten. Wie angegeben wurden diese Hydrocortisonlösungen durch alle Reinigungsstufen geführt und am Schluß mit Porter-Silber-Reagens bzw. Schwefelsäure-Alkohol-Reagens versetzt und die Extinktionen 24 Stunden später im Spektralphotometer bei den angegebenen Wellenlängen gemessen.

Da die Schwefelsäurewerte bei den Eichkurven bei Null oder 1 lagen, wurden sie bei der Faktorenberechnung vernachlässigt. Für die einzelnen Hydrocortisonkonzentrationen ergaben sich folgende Extinktionen:

1 gamma Hydrocortison

	370	410	450
	0,022	0,034	0,014
	0,021	0,034	0,014
	0,023	0,034	0,013
	0,022	0,035	0,015
	0,021	0,034	0,015
MW	0,022	0,034	0,014

2 gamma Hydrocortison

	370	410	450
	0,047	0,073	0,035
	0,046	0,074	0,037
	0,045	0,072	0,035
	0,045	0,072	0,036
	0,047	0,073	0,036
MW	0,046	0,073	0,036

3 gamma Hydrocortison

	370	410	450
	0,070	0,112	0,058
	0,071	0,113	0,058
	0,070	0,114	0,060
	0,068	0,110	0,056
	0,071	0,112	0,058
MW	0,070	0,112	0,058

4 gamma Hydrocortison

	370	410	450
	0,100	0,155	0,082
	0,094	0,150	0,079
	0,091	0,150	0,081
	0,094	0,151	0,080
	0,091	0,150	0,080
MW	0,094	0,151	0,080

Die abgelesenen Extinktionen wurden nun mit Hilfe der Allen-Formel korrigiert und der Faktor berechnet:

Faktor F = Konzentration : Extinktion

z.B.

$$F = 1 : 0{,}034 - \frac{0{,}022 + 0{,}014}{2}$$

$$F = 1 : 0{,}016$$

$$F = 62{,}5$$

Ergebnisse

Der Plasmacortisolspiegel 10 männlicher und 10 weiblicher, nicht diabetischer Patienten, die im Rekonvaleszenzstadium standen, fand sich zwischen 6,9 und 18,8 gamma/100 ml (siehe Tabelle 1) mit einem Mittelwert von 15,0 bei männlichen und 15,3 bei weiblichen Patienten.

Tabelle 1

Plasmacortisol bei Nicht-Diabetikern (Nüchternwerte)

Pat.	Alter	Geschlecht	Plasmacortisol gamma/100 ml	Diagnose
GR	18 J.	männl.	6,9	Cystitis
KR	30 J.	männl.	15,0	Ulc.duodeni
MA	49 J.	männl.	14,4	Angina pectoris
ME	56 J.	männl.	16,3	Gastritis
SCH	58 J.	männl.	18,1	Gastritis
FR	62 J.	männl.	18,1	Ulc.duodeni
RH	67 J.	männl.	11,3	Apoplexie
LÜ	68 J.	männl.	18,8	Kachexie
KO	71 J.	männl.	14,4	Thrombophlebitis
PA	82 J.	männl.	16,3	Gastritis
SCH	16 J.	weibl.	9,4	Anaemie
HA	19 J.	weibl.	14,4	Cystitis
RE	26 J.	weibl.	18,7	Anaemie
WE	45 J.	weibl.	16,9	Ulc.ventriculi
ST	24 J.	weibl.	17,5	Cholelithiasis
HO	45 J.	weibl.	16,9	Pneumonie
RI	56 J.	weibl.	16,2	Cholecystitis
JU	57 J.	weibl.	15,6	Ulc.duodeni
BÖ	61 J.	weibl.	14,4	Struma nodosa
FI	70 J.	weibl.	15,6	Apoplexie

Die freien Blutcorticoide bei Diabetikern lagen zwischen 8,1 und 17,5 gamma/100 ml Plasma (siehe Tabelle 2).

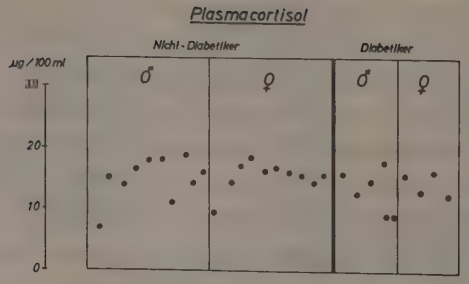
Tabelle 2

Plasmacortisol bei Diabetikern (Nüchternwerte)

Pat.	Alter	Geschlecht	Plasmacortisol gamma/100 ml	Dauer d. Diabetes
RR	63 J.	männl.	15,6	20 J.
WM	45 J.	männl.	14,4	21 J.
OA	43 J.	männl.	11,9	4 J.
GT	28 J.	männl.	15,6	13 J.
RG	63 J.	männl.	8,1	11 J.
WS	39 J.	männl.	8,1	10 J.
BD	64 J.	weibl.	15,0	10 J.
AS	62 J.	weibl.	12,5	8 J.
HS	63 J.	weibl.	17,5	16 J.
AT	44 J.	weibl.	12,5	8 J.

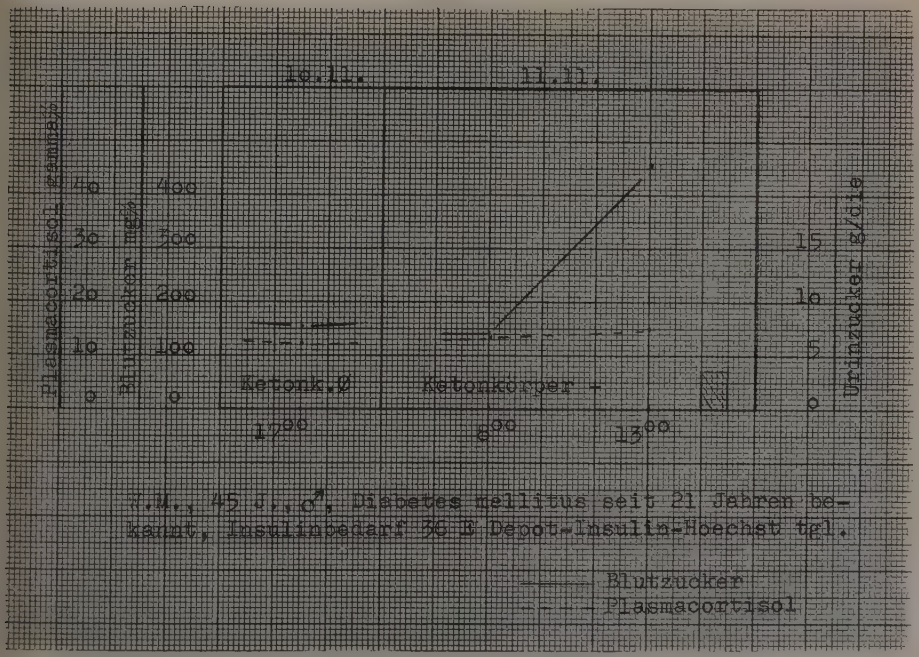
In Abbildung 1 sind die freien Blutcorticoide von Diabetikern und nicht diabetischen Patienten zusammenfassend dargestellt.

Abbildung 1



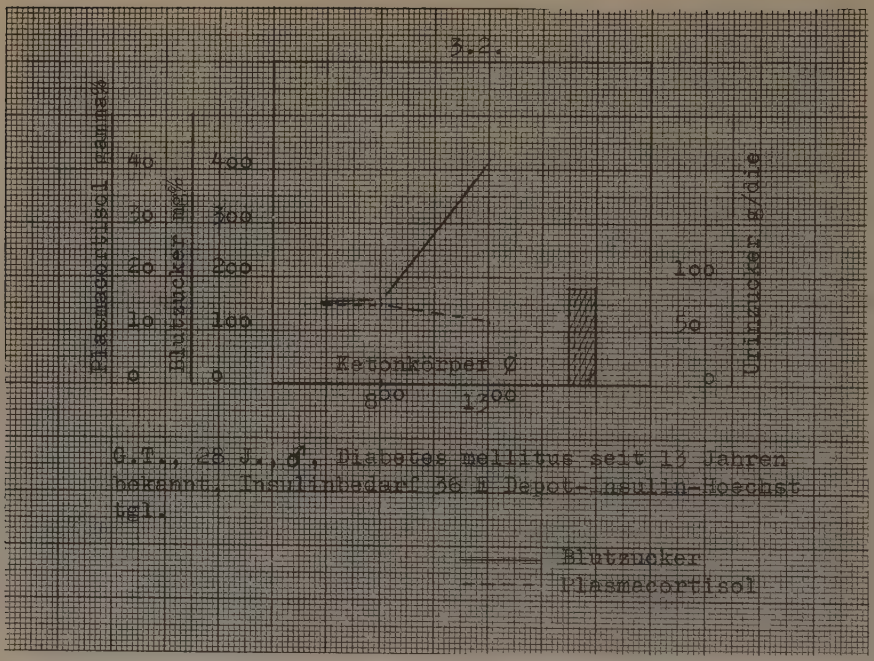
Bei den Insulinauslaßversuchen kam es bei 6 Patienten schon 4 - 5 Stunden nach Insulinentzug zu akuter Stoffwechselverschlechterung, wobei der Blutzucker auf hyperglykämische Werte von 358 bis 494 mg% anstieg und es zur Zuckerausscheidung, bei 4 Patienten auch zur Ketonurie, kam (Abb. 2 - 7). Bei zwei weiteren Patienten vergingen 19 bzw. 24 Stunden, bis der Blutzucker stark erhöht war und Ketonkörper im Harn nachweisbar waren (Abb. 9 und 1o). Bei Patientin B.D. stieg trotz 3tägigen Insulinentzugs bei Nahrungsaufnahme im Rahmen der gewohnten Diät der Blutzucker nicht höher als 248 mg%. Es kam bei dieser Patientin auch nicht zur Ketonurie (Abb.8).

Abb.2



F.M., 45 J., ♂. Diabetes mellitus seit 21 Jahren bekannt, Insulinbedarf 3o E Depot-Insulin-Höchst tgl.

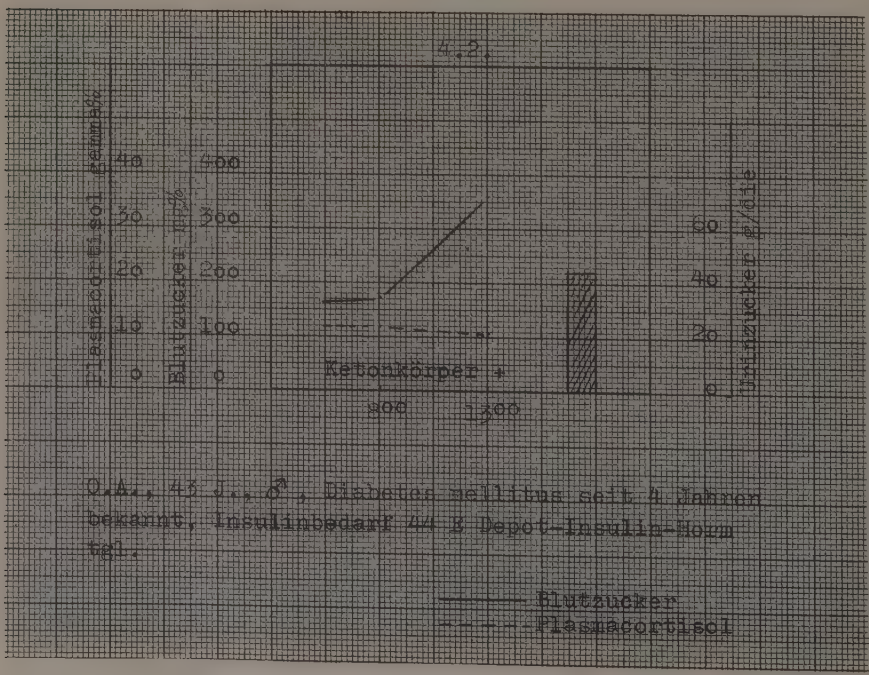
Abb.3



G.T., 28 J., ♂, Diabetes mellitus seit 13 Jahren bekannt, Insulinbedarf 36 E Depot-Insulin-Hoechst tgl.

——— Blutzucker
– – – Plasmacortisol

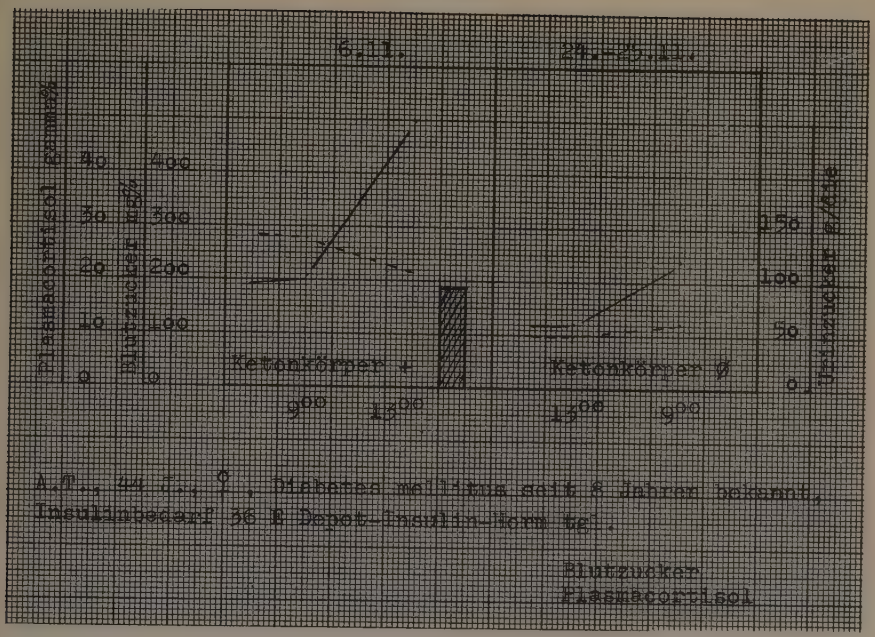
Abb.4



O.A., 43 J., ♂, Diabetes mellitus seit 4 Jahren bekannt, Insulinbedarf 44 E Depot-Insulin-Hoechst tgl.

——— Blutzucker
– – – – Plasmacortisol

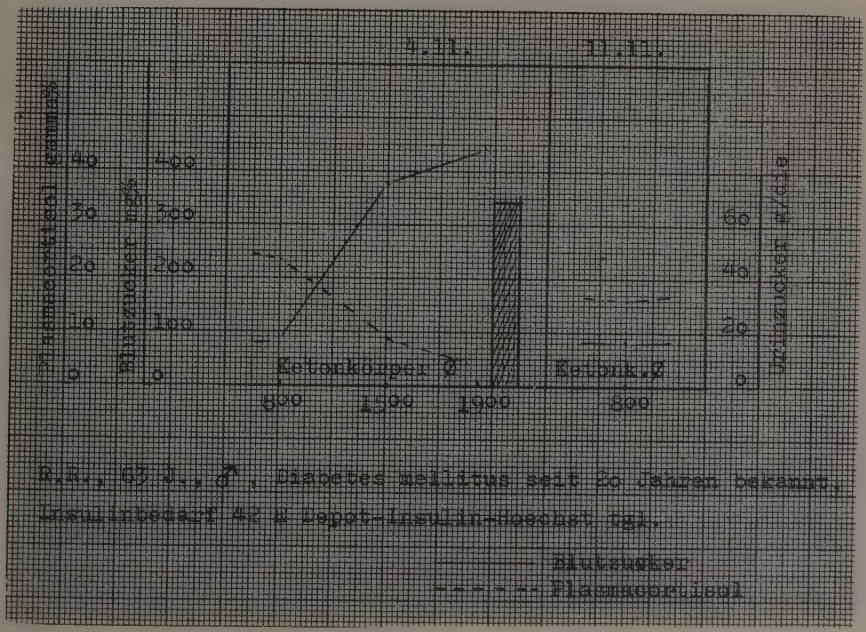
Abb.5



A.T., 44 J., ♀, Diabetes mellitus seit 8 Jahren bekannt, Insulinbedarf 36 E Depot-Insulin-Norm tgl.

Blutzucker
Plasmacorrinol

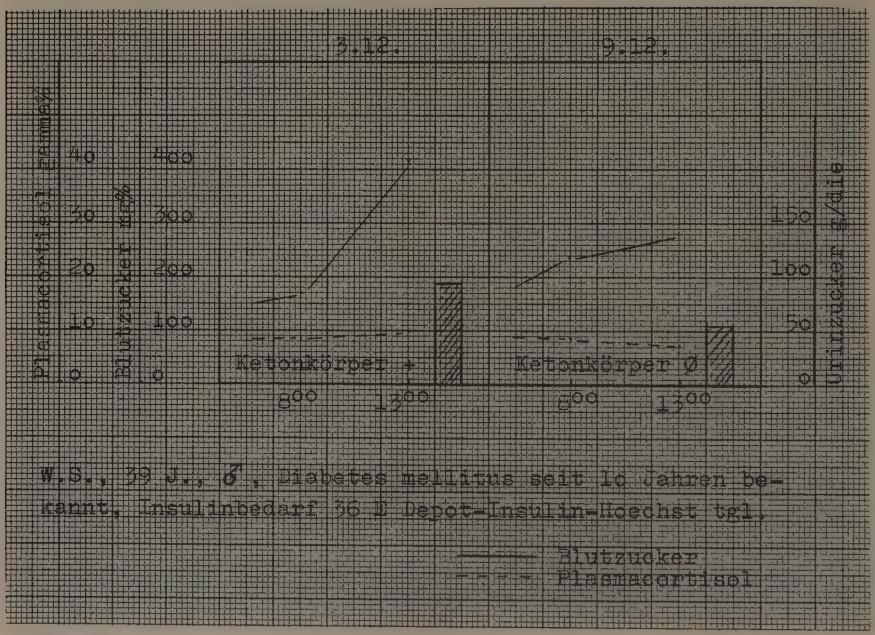
Abb.6



R.H., 65 J., ♂, Diabetes mellitus seit 20 Jahren bekannt, Insulinbedarf 40 E Depot-Insulin-Norm tgl.

Blutzucker
Plasmacorrinol

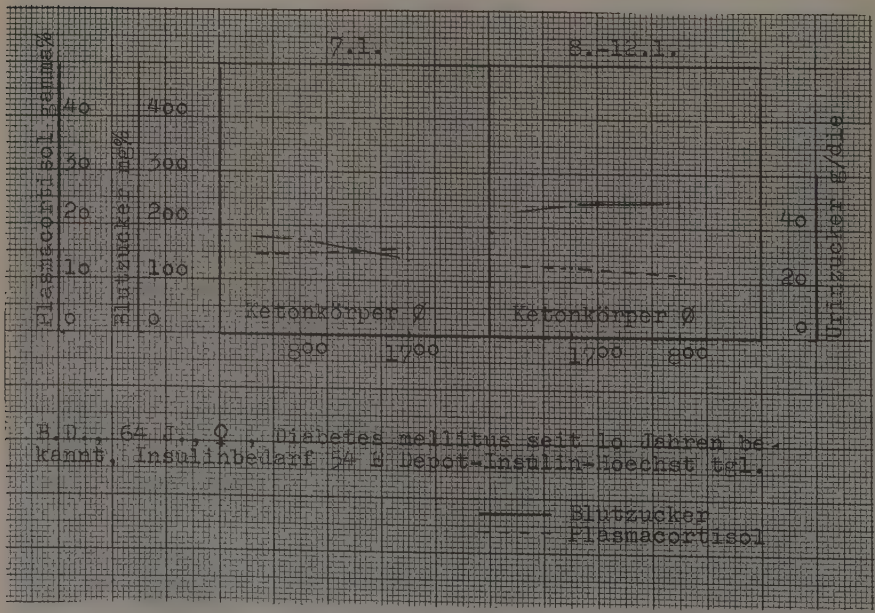
Abb.7



W.S., 39 J., ♂, Diabetes mellitus seit 16 Jahren bekannt, Insulinbedarf 36 E Depot-Insulin-Hoechst tgl.

——— Blutzucker
– – – – Plasmacortisol

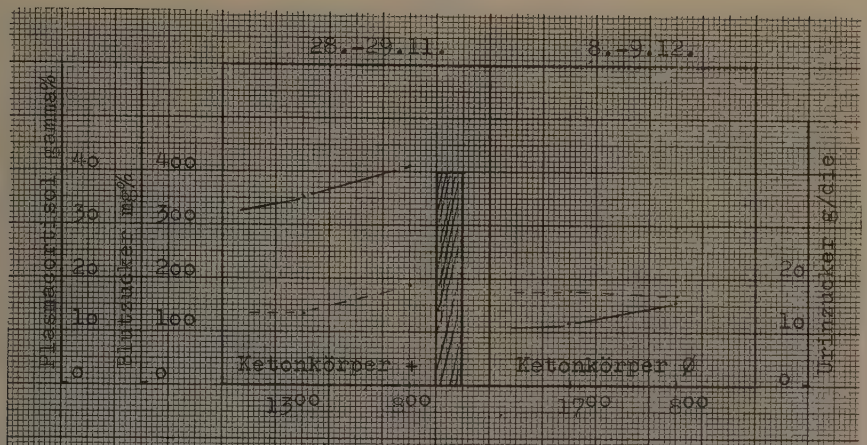
Abb.8



B.D., 64 J., ♀, Diabetes mellitus seit 10 Jahren bekannt, Insulinbedarf 54 E Depot-Insulin-Hoechst tgl.

——— Blutzucker
– – – – Plasmacortisol

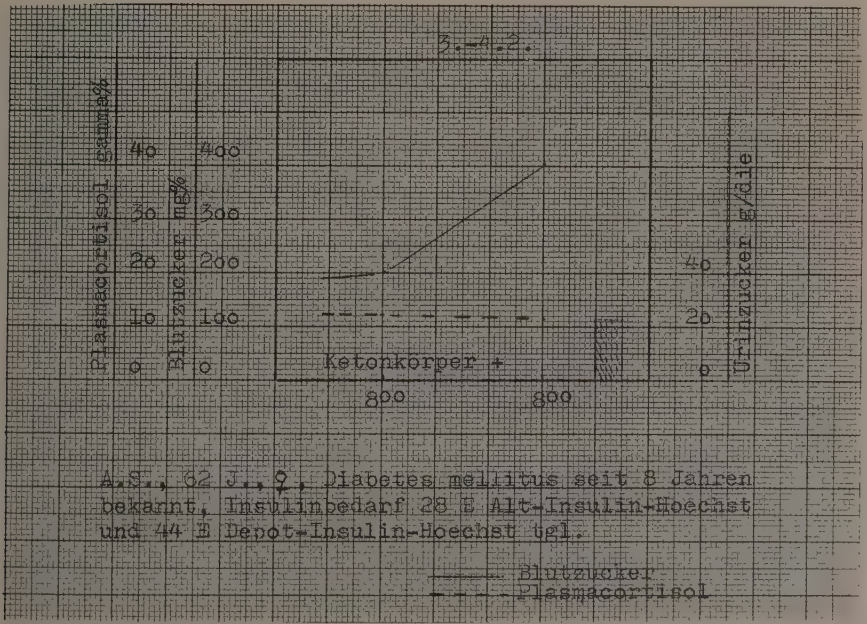
Abb.9



H.S., 63 J., ♀, Diabetes mellitus seit 16 Jahren bekannt, Insulinbedarf 54 E Depot-Insulin-Hoechst tgl.

——— Blutzucker
– – – – Plasmacortisol

Abb.1o



A.S., 62 J., ♀, Diabetes mellitus seit 8 Jahren bekannt, Insulinbedarf 28 E Alt-Insulin-Hoechst und 44 E Depot-Insulin-Hoechst tgl.

——— Blutzucker
– – – – Plasmacortisol

Die Abbildungen 2 - 10 stellen das Verhalten von Blutzucker und freiem Plasmacortisol während der Stoffwechselentgleisung bei den einzelnen Diabetikern dar.

Sowohl bei akuter als auch bei verzögerter Stoffwechseldekompensation trat trotz stark erhöhten Blutzuckers keine signifikante Veränderung in der Höhe des Plasmacortisolspiegels ein (Abb. 11 u. 12). Auch bei den Patienten, bei denen Ketonkörper im Harn auftraten, war zum Zeitpunkt stärkster Hyperglykämie und Ketonurie kein Anstieg der freien Blutcorticoide nachweisbar.

Abb. 11

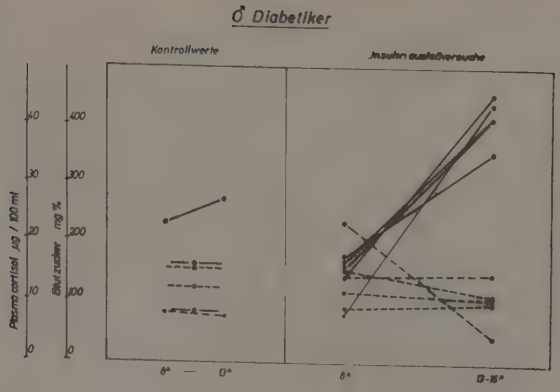
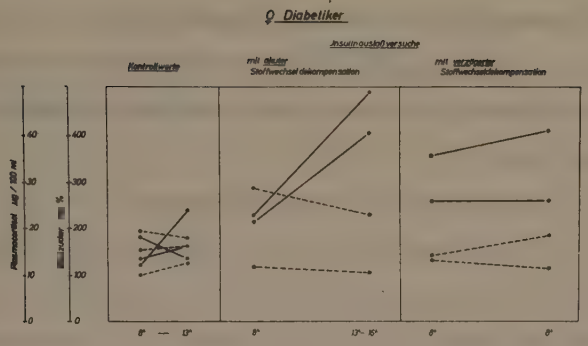


Abb. 12



Bei Patient RR sank während des Insulinentzugs das Plasmacortisol von 23,8 auf 4,4 gamma/100 ml, bei Patient AT von 28 auf 22 gamma/100 ml. Bei den beiden Patienten war am Tage des Insulinauslaßversuches die Urin- und Zuckerausscheidung stark erhöht. Die Urinmenge bei Patient RR betrug 3200 ml gegenüber einem Durchschnitt von 700 ml an 3 Vortagen, bei Patient AT 2700 ml gegenüber einem Durchschnitt von 1600 ml an 5 Vortagen. Bei den übrigen Patienten war während des Insulinauslaßversuches die Diurese nicht wesentlich vermehrt, offenbar infolge der geringen Zuckerausscheidung, die auf die hohe Nierenschwelle zurückzuführen ist.

Bei allen Diabetikern entsprachen die Plasmacortisolwerte des Versuchstages den Cortisolkontrollwerten bei ausgeglichenem Stoffwechsel.

Ausserdem wurde das freie Plasmacortisol bei einer komatösen Diabetikerin bestimmt, die bald nach der Aufnahme verstarb. Das Plasmacortisol betrug 33 gamma/100 ml bei einem Blutzucker von 480 mg % und gleichzeitiger Glukosurie und Ketonurie. Diese Werte sind in Tabelle 2 nicht mitaufgeführt.

Diskussion der Ergebnisse

In der Literatur werden die Normalwerte für freies Plasmacortisol zwischen 0,0 und 33,4 gamma/100 ml angegeben (Bliss und Mitarbeiter 1953, Voigt und Koch 1955, Jaumann 1957). Damit übereinstimmend fanden wir bei 10 männlichen und 10 weiblichen stoffwechselgesunden Rekonvaleszenten einen Plasmaspiegel zwischen 6,9 und 18,8 gamma/100 ml. Bei 10 Diabetikern mit kompensiertem Stoffwechsel zeigte sich bei unseren Bestimmungen, bei denen die freien Plasmasteroide zwischen 8,1 und 17,5 gamma/100 ml lagen, keine Abweichung von den erwähnten Normalwerten. Auch andere Untersucher berichten über gleiche Ergebnisse. Wallace und Mitarbeiter (1955) fanden Werte zwischen 14 und 30 gamma/100 ml, Jaumann (1957) gab 7 bis 31 gamma/100 ml an und Rifkin und Mitarbeiter (1958) bestimmten Werte zwischen 4 und 25 gamma/100 ml.

Ausserdem wurden bei 5 Diabetikern - ebenfalls bei ausgeglichenem Stoffwechsel unter Insulintherapie - in der Nachmittagszeit eines anderen Tages eine weitere Cortisolbestimmung gemacht. Diese Werte wichen nicht signifikant von den Nüchternwerten ab.

Dagegen fanden Göth und Mitarbeiter (1956) bei 17 Diabetikern, deren Nüchternblutzucker unter Insulintherapie zwischen 90 und 700 mg % lag, dass der Plasmacortisolspiegel im Mittel bei 30,9 gamma/100 ml lag. Bei 2 Patienten, bei denen im Laufe des Tages trotz Insulingaben der Blutzucker um mehr

als 100 mg % anstieg oder abfiel, beobachteten sie darüber hinaus, daß sowohl bei Anstieg als auch bei Abfall des Blutzuckers der Plasmacortisolspiegel anstieg. In dieser Untersuchungsreihe wurde das Verhalten des Plasmacortisols bei grossen Schwankungen des Blutzuckerspiegels betrachtet ohne Angaben über Zuckerausscheidung und Auftreten von Ketonkörpern im Harn. Es bleibt daher offen, ob die hohen Cortisolwerte bei einigen Patienten nicht durch eine Acidose hervorgerufen wurden. Bei länger dauernder Acidose und im diabetischen Koma konnten bisher von allen Beobachtern erhöhte Plasma- und Urinsteroide nachgewiesen werden (Stowers 1951, McArthur und Mitarbeiter 1950, 1952, 1954, Wallach 1957, eigene Beobachtung). McArthur und Mitarbeiter (1952) berichten von einem mongoloiden Diabetiker, bei dem die Insulindosis so gewählt wurde, daß die Blutzuckerwerte zwischen 328 und 461 mg % lagen und grosse Mengen Glukose ausgeschieden wurden, aber keine Ketonurie auftrat. Die Autoren fanden in dieser Zeit keine Veränderung der Urinsteroide im Vergleich zu ausgeglichenem Stoffwechsel unter höherer Insulindosis.

Klein und Mitarbeiter (1956) bestimmten das Plasmacortisol bei diabetischen Kindern. Bei gesunden Kindern fanden sie einen Mittelwert von 14 gamma/100 ml, bei diabetischen Kindern war dagegen der Mittelwert auf 20 gamma/100 ml erhöht. Die Autoren sahen weiterhin, daß bei den Diabetikern eine direkte Beziehung zwischen der Höhe des Plasmacortisols und der Alkalireserve des Blutes bestand. Bei 11 von 45 Kindern, deren Plasmacortisolspiegel zwischen 19 und 46 gamma/100 ml lag, waren

neben hohen Glukosemengen auch Ketonkörper im Harn nachweisbar. Die Autoren vermuteten, dass der Diabetes mellitus bei Kindern nicht nur durch Insulinmangel sondern auch durch Mehrsekretion der Nebennierenrinde bedingt sei.

Ein rascher Blutzuckerabfall nach Insulingaben führt bei Stoffwechselgesunden zum Anstieg des Plasmacortisols und vermehrter Ausscheidung der Urinsteroide. Wie in der Einleitung erwähnt - hat Bartelheimer schon 1942 beobachtet, dass bei Normalpersonen nach Insulingaben im Blut ein "corticotroper Wirkstoff" auftritt, der bei Mäusen zum Anstieg des Nebennierengewichtes führt. Beim therapeutischen Insulinschock fanden Rausch und Bartelheimer (1941) sowie Freeman und Mitarbeiter (1954) Eosinophilenabfall, Marks und Mitarbeiter (1958) einen Anstieg der 17-OHCS und 17-Ketosteroide im Harn. Insulinbelastungen führen zu erhöhtem Blutsteroidspiegel und vermehrter Ausscheidung der Urinsteroide (Bliss und Mitarbeiter 1954, Froesch und Mitarbeiter 1954, Weinges und Mitarbeiter 1960). Jaumann (1957) berichtet, dass auch bei Diabetikern nach Insulingaben der Plasmacortisolspiegel erhöht ist, selbst dann, wenn der Blutzuckerabfall nicht zu hypoglykämischen Werten führt. Jakobson (1958) fand, dass bei frisch entdecktem Diabetes die mittlere Corticoidausscheidung nach Einstellung auf Insulin im Vergleich zu den Werten vor der Insulintherapie deutlich erhöht war. Der Autor führt den Anstieg der Urinsteroide auf eine gesteigerte Nebennierenrindentätigkeit zurück, die durch den plötzlichen Blutzuckerabfall bei Insulinsubstitution bedingt sei.

Auch der Anstieg des Blutzuckers soll nach Abelin und Pfister (1954) mit einer vermehrten Nebennierenfunktion einhergehen. Diese Untersucher konnten im Tierexperiment nachweisen, dass nach peroraler Glukosezufuhr eine Verminderung von Cholesterin, Glucocorticoiden und Ascorbinsäure in der Nebenniere auftritt und deuteten diese Befunde als Anstieg der Nebennierenrindeninkretion. In diesem Sinne werteten auch Hungerland und Raming (1951) und Artunkel und Kayahan (1952), die nach Glukosezufuhr Eosinophilenabfall beobachteten, ihre Untersuchungen aus. Dagegen fand Schneeberg (1953) bei seinen Versuchen keinen Hinweis, dass Glukosezufuhr bei Diabetikern oder gesunden Kontrollpersonen zu einem Eosinophilensturz führt. Weinges und Mitarbeiter (1960) konnten nachweisen, dass der Erhöhung des Blutzuckerspiegels nach Glukosegaben kein Anstieg des Plasmacortisols folgt.

Bei unseren Untersuchungen kam es durch Insulinentzug zu einem teils raschen (4 - 5 Stunden), teils verzögertem (19 - 87 Stunden) Anstieg des Blutzuckers, dessen Maximum zwischen 248 und 494 mg % lag. Die Patienten schieden dabei Glukose im Harn aus und bei 6 Diabetikern waren Ketonkörper nachweisbar. Die Plasmacortisolwerte, die bei Erreichen des Blutzuckermaximums bestimmt wurden, wichen nicht signifikant von den am gleichen Tag bestimmten Nüchternwerten ab. Sie lagen auch im gleichen Bereich wie die Werte, die zu gleichen Tageszeiten an einem anderen Tag bei ausgeglichenem Stoffwechsel bestimmt wurden. Bei 2 Patienten (RR und AT) kam es während des Insulinentzugs zum Abfall des Plasmacortisols von 23,8 auf 4,4 gamma/100

bzw. 28 auf 22 gamma/100 ml. Durch die starke glykosurische Diurese war bei diesen Diabetikern die Harnmenge am Versuchstag erhöht. Tamm und Voigt (1960) haben nachgewiesen, daß bei forcierter Diurese vermehrt 17-OHCS ausgeschieden werden. Es besteht daher die Möglichkeit, daß bei diesen beiden Diabetikern durch die starke Diurese vermehrt freies Cortisol ausgeschwemmt wurde. Hiermit könnte der Abfall des Plasmacortisols während des Insulinentzugs erklärt werden. Bei den übrigen Patienten war die Diurese am Tage des Insulinauslaßversuches nicht bemerkenswert erhöht, - offenbar infolge der geringen Zuckerausscheidung, die auf die hohe Nierenschwelle zurückzuführen ist.

Rifkin und Mitarbeiter (1958) fanden bei ihren Untersuchungen, daß die Normwerte für freies Plasmacortisol bei Diabetikern ohne Gefäßschäden im gleichen Bereich liegen wie bei Patienten mit diabetischer Nephropatie und bei Nichtdiabetikern mit Niereninsuffizienz. Zu den gleichen Ergebnissen führten die Untersuchungen von Karl und Torbica (1960). Eine Beeinflussung unserer Untersuchungsergebnisse durch diabetische Nephropatie oder Niereninsuffizienz ist somit unwahrscheinlich.

Es bleibt jedoch offen, ob nicht der Plasmacortisolspiegel durch den Leberstoffwechsel, der durch den hohen Blutzuckerspiegel und Acetonämie beeinflusst wird, verändert wird. Tyler und Mitarbeiter (1954) vermuten, daß der erhöhte Plasmacortisolspiegel nach Operationen nicht nur durch erhöhte

Nebennierenrindeninkretion sondern auch gestörten Abbau der Hormone in der Leber hervorgerufen wird. Bei Berücksichtigung der Faktoren, die den Plasmacortisolspiegel mitbeeinflussen, ergab sich kein Hinweis für eine Stimulierung der Nebennierenrinde im kurzfristigen Insulinauslassversuch.

Dagegen haben McArthur und Mitarbeiter (1950) und Stowers (1951) im späten Stadium diabetischer Acidose vermehrt Steroidmetaboliten im Harn nachgewiesen. Bei 7 Diabetikern, die im Koma diabeticum stationär aufgenommen wurden, fanden auch Wallach und Mitarbeiter (1957) stark erhöhte Werte für freies und gebundenes Plasmacortisol. Bei 5 dieser Patienten, die sich innerhalb von 12 Stunden aus der Acidose erholten, lagen nach dieser Zeit die Plasmacortisolwerte wieder im Normbereich, wohingegen die Urinsteroide noch 24 bis 36 Stunden später vermehrt waren. McArthur und Mitarbeiter (1954 a und b) untersuchten den zeitlichen Zusammenhang zwischen Beginn der Acidose und Erhöhung der Harnsteroide. Bei 3 pankreasdiabetischen Hunden kam es 24 Stunden nach Insulinentzug zu ausgeprägter Stoffwechselverschlechterung, aber erst nach 48 Stunden fanden die Autoren Eosinophilenabfall und vermehrte Ausscheidung von Steroiden. ACTH-Gaben bewirkten vorzeitige Stoffwechselverschlechterung, während bei einem pankreasdiabetischen und gleichzeitig adrenalektomierten Hund die acidotischen Symptome nicht so stark ausgeprägt waren. Kalant (1958) vermutet, dass Cortisongaben die Entwicklung der diabetischen Acidose nicht wesentlich beeinflussen. Der Autor beobachtete bei 8 Diabetikern während eines 24stündigen Nahrungs- und Insulinentzugs Blut-

zucker, Alkalireserve, Stickstoffausscheidung und Ketonkörper im Harn. Bei Wiederholung dieses Versuchs bei denselben Diabetikern aber gleichzeitigen Cortisongaben fand er wohl eine stärkere Glykämie und höhere Stickstoffausscheidung aber keine stärker verminderte Alkalireserve.

Übereinstimmend mit den Beobachtungen von Wallach (1957) konnten wir bei einer Patientin, die im Koma diabeticum stationär aufgenommen wurde, einen erhöhten Plasmacortisolspiegel nachweisen.

Zusammenfassung

Es wurden bei 10 männlichen und 10 weiblichen nicht diabetischen Patienten und bei 10 Diabetikern die freien 17,21-Dihydroxycorticosteroide im Nüchternblut nach einer modifizierten Methode von Eik-Nes bestimmt. Das freie Plasmacortisol bei Nichtdiabetikern lag zwischen 6,9 und 18,8 gamma/100 ml, bei Diabetikern zwischen 8,1 und 17,5 gamma/100 ml.

Bei 9 Diabetikern wurde das freie Plasmacortisol während kurzfristiger Insulinauslassversuche im Vergleich zum Verhalten bei ausgeglichener Stoffwechsellage beobachtet. 7 Diabetiker zeigten nach Anstieg des Blutzuckers auf Werte zwischen 248 und 494 mg % keine Veränderung des Plasmacortisolspiegels. Bei 2 Patienten mit relativ hohem Cortisolausgangsspiegel fiel im Verlauf des Insulinauslassversuches der Cortisolwert ab. Bei beiden Patienten war während des Versuches die Diurese stark erhöht, so dass in diesen Fällen die Ausschwemmung des Cortisols durch den Harn erwogen werden muss. Bei den Patienten mit unverändertem Plasmacortisol wurde keine wesentlich stärkere Diurese beobachtet. Aus den vorliegenden Untersuchungen ergibt sich kein Hinweis auf eine Stimulierung der Nebennierenrinde im kurzfristigen Insulinauslassversuch.

Bei einer komatösen Diabetikerin konnten bei 480 mg % Blutzucker, Glukosurie und Ketonurie erhöhtes freies Plasmacortisol nachgewiesen werden in Übereinstimmung mit der von Wallach (1957) angestellten Studie über die 17-OHCS im diabetischen Koma.

Literaturverzeichnis

Abelin, J. & Pfister, H.: Acta endocr. 16, 19, 1954

Alivisatos, J.G. & McCullagh, E.P.: Am. J. Med. 21, 344, 1956

Artunkel, S. & Kayahan, S.: J. Clin. Endocr. & Metab. 12, 1095, 1952

Baird, I.M. & Munro, D.S.: Lancet I, 962, 1954

Bartelheimer, H.: Ergebn. Inn. Med. 59, 617, 1940

Bartelheimer, H. & Cabeza, F.: Klin. Wschr. 21, 630, 1942

Bartelheimer, H. & Papayanopulos zitiert bei Bartelheimer, H.: Ergebn. Inn. Med. 59, 617, 1940

Bayliss, R.I.S. & Steinbeck, A.W.: Biochem.J. 54, 523, 1953

Bastenie, P.A. & Verbiest, M.: Semaine Hop. 29, 2438, 1953

Becker, B.: Ann. internat. med. 37, 273, 1952

Becker, B., Maegwyn-Davies, G.D., Rosen, D., Friedenwald, J.S. & Winter F.C.: Diabetes 3, 175, 1954

Bierich, J.: pers. Mitteilungen

Bierry, H. & Malloizel, L.: Comt. Rend. Soc. Biol. (Paris) 65, 232, 1908 zitiert bei Thorn, G.W., Renold, A.E. & Cahill, G.F.: Diabetes 8, 337, 1959

Bliss, E.L., Sandberg, A.A., Nelson, D.H. & Eik-Nes, K.: J. Clin. Invest. 32, 919, 1953

Bliss, E.L., Migeon, C.J., Eik-Nes, K., Sandberg, A.A. & Samuels, L.T.: Metab. 3, 493, 1954

Bloodworth, J.M.B.jr. & Hamwi, G.J.: Diabetes 5, 37, 1956

Blum, F.: Arch. klin. Med. 71, 146, 1901 zitiert bei Thorn, G.W., Renold, A.E. & Cahill, G.F.: Diabetes 8, 337, 1959

Boland, E.W. & Headley, N.E.: J.A.M.A. 141, 301, 1949

Bookman, J.J., Drachman, S.R., Schaefer, L.I. & Adlersberg, D.: Diabetes 2, 100, 1953

Britton, S.W. & Silvette, H.: Am. J. Physiol. 100, 693, 1932

Brown, E.M.jr., Lukens, F.D.W., Elkington, J.R. & De Moor, P.: J. Clin. Endocr. 10, 1363, 1950

Conn, J.W. & Fajans, S.S.: Metab. 5, 114, 1956

Cori, C.F. & Cori, G.T.: J. Biol. Chem. 74, 473, 1927 zitiert bei Thorn, G.W., Renold, A.E. & Cahill, G.F.: Diabetes 8, 337, 1959

Drury, D.R.: Ciba Colloquia Endocr. 6, 148, 1953 zitiert bei Renold, A.E., Ashmore, J. & Hastings, A.B.: Vitamins & Hormones 14, 139, 1953

Dustan, H., Corcoran, A.C., Taylor, R.D. & Page, I.H.: Arch. Int. Med. 87, 627, 1951

Eik-Nes, K., Nelson, D.H. & Samuels, L.T.: J. Clin. Endocr. & Metab. 13, 1280, 1953

Eik-Nes, K., Sandberg, A.A., Migeon, C.J., Tyler, F.H. & Samuels, L.T.: J. Clin. Endocr. & Metab. 15, 13, 1955

Ehlers, H.: Acta ophthalmol. 31, 289, 1953

Falta, W.: Die Zuckerkrankheit 3. Aufl. Urban & Schwarzenberg Berlin 1944

Field, J.B. & Marble, A.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 77, 195, 1951

Field, J.B.: Endocr. 56, 499, 1955

Forbes, A.P., Donaldson, E.C., Reifenstein, E.C.jr. & Albright, F.: J. Clin. Endocr. 7, 264, 1947

Fraser, R.W., Forbes, A.P., Albright, F., Sulkowitz, H. & Reifenstein, E.C.: J. Clin. Endocr. 1, 234, 1941

Freeman, R.V., Jones, T.E. & Palmer, I.I.: A.M.A. Arch. Neurol. & Psychiat. 71, 501, 1954

Froesch, R., Kägi, H.R. & Labhart, A.: Schweiz. Med. Wschr. 84, 304, 1954

Froesch, R.: Schweiz. Med. Wschr. 85, 121, 1955

Froesch, E.R., Winegard, A.I., Renold, A.E. & Thorn, G.W.: J. Clin. Invest. 37, 524, 1958

Góth, A., Góth, M., Lengyel, L., Sávely, C. & Stadler, E.: Ztschr. Vitamin-, Hormon-, Fermentforsch. 8, 230, 1956

Hartman, F.A. & Brownell, K.A.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 31, 834, 1934 zitiert bei Jacobson, Th.: Acta endocr. Suppl. 41, 1958

Hausberger, F. & Ramsey, A.G.: Endocr. 53, 423, 1953

Hausberger, F.X. & Ramsey, A.G.: Endocr. 56, 533, 1955

Horstman, P.: Acta endocr. 5, 261, 1950

Houssay, B.A.: Endocrinol. 5, 103, 1929

Hungerland, H. & Raming, P.: Klin. Wschr. 29, 582, 1951

Ingle, D.J.: Endocr. 29, 649, 1941

Ingle, D.J., Sheppard, R., Evans, J.S. & Kuizenga, M.: Endocr. 37, 341, 1945 a

Ingle, D.J., Winter, H.A., Li, C.H. & Evans, H.M.: Science 101, 671, 1945 b

Ingle, D.J.: Diabetes 5, 187, 1956

Jacobson, Th.: Acta endocr. Suppl. 41, 1958

Jackson, W.P.U.: Lancet 625, 1955

Jaumann, R.: Schweiz. Med. Wschr. 87, 1069, 1957

Kalant, N.: Lancet II 925, 1958

Karl, H.J. & Torbica, M.: Klin. Wschr. 38, 110, 1960

Kendrick, A.B., Schoenberger, J.A., Dyniewiecz, J.M., Grimelli, L.J. & Keeton, R.W.: J. Lab. & Clin. Med. 36, 844, 1950

Kinsell, L.W., Balch, H.E. & Michaels, G.D.: Metab. 2, 421, 1953

Kinsell, L.W., Lawrence, L., Balch, H.E. & Weigand, R.D.: Diabetes 3, 358, 1954

Klein, R., Weigand, F.A., Junes, M. & Greeman, L.: Pediatrics 17, 214, 1956

Knick, B.: Acta neurovegetativa 9, 316, 1954

Kracht, J.: in "Stoffwechselwirkungen der Steroidhormone" 2. Symposion Dtsch. Ges. Endokr. S. 144 Berlin - Göttingen - Heidelberg 1956

Lachnit, V.: Wien. Ztsch. Inn. Med. 33, 419, 1952

Le Compte, P.M.: J. Chron. Dis. 2, 178, 1955

Long, C.N.H. & Lukens, F.D.W.: Proc. Soc. Exper. Biol. (N.Y.) 32, 743, 1934 zitiert bei Jacobson, Th.: Acta endocr. Suppl. 41, 1958

Long, C.N.H., Katzin, B. & Fry, E.G.: Endocr. 26, 309, 1940 zitiert bei Jacobson, Th.: Acta endocr. Suppl. 41, 1958

Luft, R., Olivecrona, H.& Sjögren, B.: J. Clin. Endocr. 15, 391, 1955

Lukens, F.D.W. & Dohan, F.C.: Endocr. 22, 51, 1938 zitiert bei Jacobson, Th.: Acta endocr. Suppl. 41, 1958

Maegwyn-Davies, G.D., Lerman, S., Pagell, B.M., Stone, H.H. & Friedenwald, J.S.: Bull. Johns Hopkins Hosp. 99, 16, 1956 zitiert bei Sauer, H.: Endokrinol. 36, 237, 1958

Marks, L.J., Weiss, D.M., Leftin, J.H., Rossmeisl, A.B. & E.C.: J. Clin. Endocr. & Metab. 18, 235, 1958

McAlpine, H.T., Venning, E.H., Johnson, L., Schenker, V., Hoffman, M.M. & Browne, J.S.L.: J. Clin. Endocr. 8, 591, 1948

McArthur, J.W. Sprague, A.G. & Mason, H.L.: J. Clin. Endocr. 10, 307, 1950

McArthur, J.W., Chao, D.H.C., MacLachlan, E.A., Morril, M.F., Campbell, A.M., Wood, M.D., Zygmuntowicz, A., Goetz, F.C. & Sveinsson, S.L.: J. Clin. Invest. 31, 592, 1952

McArthur, J.W., Smart, G.A., MacLachlan, E.A., Terry, M.L., Harting, D., Gautier, E., Godley, A., Swallow, K.A., Simeone, F.A., Zygmuntowicz, A., Christo, E., Crepeaux, J., Point, W.W. & Benson, J.A.jr.: J. Clin. Invest. 33, 420, 1954 a

McArthur, J.W., Gautier, E., Swallow, K.A., Godley, A., MacLachlan, E.A., Terry, M.L., Hume, D., Crepeaux, J., Simeone, F.A., Keitel, H. & Berman, H.: J. Clin. Invest. 33, 437, 1954 b

Miller, S. & Mason, H.L.: J. Clin. Endocr. 5, 220, 1945

Nelson, D.H. & Samuels, L.T.: J. Clin. Endocr. 12, 519, 1952

Perera, G.A., Pines, K.L., Hamilton, H.B. & Vislockey, K.: Am. J. Med. 7, 56, 1949

Plotz, C.M., Knowlton, A.J. & Ragan, C.: Am. J. Med. 8, 597, 1952

Polosa, P., Mughini, L. & Di Stefano, S.: Folia endocr. 8, 553, 1953

Porges, O.: Ztschr. klin. Med. 69, 341, 1909 zitiert bei Thorn, G.W., Renold, A.E. & Cahill, G.F.: Diabetes 8, 337, 1959

Porter, C.C. & Silber, R.H.: J. Biol. Chem. 185, 201, 1950

Poulsen, J.E.: Diabetes 2, 7, 1953

Rausch, F. & Bartelheimer, H.: Ztschr. klin. Med. 139, 522, 1941

Rausch-Stroomann, J.G. & Sauer, H.: IV Symposion Dtsch. Ges. Endokr. 305, 1956

Reman, A.S. & Schwartz, W.B.: J. Clin. Invest. 31, 656, 1952

Renold, A.E. & Hastings, A.B.: Acta endocr. 14, 47, 1953

Rich, A.R.: Bull. Johns Hopkins Hosp. 87, 549, 1950

Ricketts, H.T.: Diabetes 3, 82, 1954

Rifkin, H., Salomon, S. & Lieberman, S.: Diabetes 7, 9, 1958

Rose, S.: Australian J. Exper. Biol. & Med. Sc. 29, 469, 1951 zitiert bei Wallach, St.: Metab. 6, 107, 1957

Shadaksharappa, K.N.O.: Calloway, R.H., Kyle, R.H. & Keeton, R.W.: J. Clin. Endocr. 11, 1383, 1953

Sauer, H. & Rausch-Stroomann, J.G.: 50. Tagung Nordwestdtsch. Ges. Inn. Med. 26, 1958

Sauer, H., Rausch-Stroomann, J.G. & Hoffmann-Conrads, E.: Endokrinol. 36, 237, 1958

Sayers, G., Burns, T.W., Tyler, F., Jager, B.V., Schwartz, T.B., Smith, E.L., Samuels, L.T. & Davenport, H.W.: J. Clin. Endocr. 9, 593, 1949

Schneeberg, N.G.: Diabetes, 2, 372, 1953

Staehlin, D., Labhart, A., Froesch, R. & Kägi, H.R.: Acta endocr. 18, 521, 1955

Stowers, J.M.: Clin. Sc. 10, 487, 1951

Tagnon, R.: Acta clin. Belg. 8, 103, 1953

Tamm, J. & Voigt, K.D.: Acta endocr. Suppl. 54, 1960

Thorn, G.W., Renold, A.E. & Winegard, A.I.: Brit. Med. J. 11, 1009, 1957

Thorn, G.W., Renold, A.E. & Cahill, G.F.: Diabetes 8, 337, 1959

Tyler, F.H., Schmidt, C.D., Eik-Nes, K., Brown, H. & Samuels, L.T.: J. Clin. Invest. 33, 1517, 1954

Voigt, K.D. & Koch, B.R.O.: Klin. Wschr. 34, 1035, 1956

Wallace, E.Z., Christy, N.P. & Jailer, J.W.: J. Clin. Endocr. & Metab. 9, 1073, 1955

Wallach, St., Englert, E. & Brown, H.: Metab. 6, 107, 1957

Wallentin, P. & Braunsteiner, H.: Wien. Ztschr. Inn. Med. 37, 474, 1956

Weinges, K.F. & Schwarz, K.: Klin Wschr. 38, 792, 1960

Wick, A.N., Drury, D.R. & Mac Kay, E.M.: Ann. N.Y. Acad. Sc. 54, 684, 1951 zitiert bei Renold, A.E., Ashmore, J. & Hastings, A.B.: Vitamins & Hormones 14, 139, 1956

Wilson, D.L., Frawley, T.F., Forsham, P.H. & Thorn, G.W.: Proc. Am. Diab. Assoc. 10, 25, 1950

Die Laboratoriumsarbeiten für diese Dissertation wurden im Stationslaboratorium der I Medizinischen Klinik des Universitätskrankenhauses Hamburg-Eppendorf (Direktor: Professor Dr. med. H. Bartelheimer) ausgeführt.

Herrn Privatdozent Dr. med. H. Sauer danke ich für die Überlassung des Themas und die Unterstützung und Beratung bei dieser Arbeit.

Herrn Dr. med. J.-G. Rausch-Stroomann danke ich für die Ratschläge bei den Laboratoriumsarbeiten.

Herrn Privatdozent Dr. med. J. Bierich danke ich für die Möglichkeit, die Methode der Plasmacortisolbestimmung in seinem Labor zu erlernen.

Lebenslauf

Am 10. Oktober 1931 wurde ich als Tochter des Fabrikanten Fritz Reineke und seiner Ehefrau Bernardine, geb. Hecker, in Paderborn geboren.

Schuleintritt 1938 in die Volksschule zu Salzkotten/Westf. Reifeprüfung im März 1951 an der Staatlichen Pelizaeusoberschule in Paderborn.

Von 1952 bis 1953 Sprechstundenhilfe in einer Landpraxis.

Wintersemester 1953 Beginn des Medizinstudiums. Vorklinische Semester in Münster. Freiburg und Heidelberg. Ärztliche Vorprüfung im Februar 1955 an der Universität Heidelberg. Klinische Semester in Wien, Innsbruck und Hamburg. Dezember 1959 ärztliche Prüfung an der Universität Hamburg.

März bis Juli 1960 Medizinalpraktikantin an der II Medizinischen Klinik des Universitätskrankenhauses Hamburg-Eppendorf.

Druck: Photo-Copie GmbH Hamburg 1